

DOCKET NO.: 263752US0PCT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Frederic DOLLE

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HERewith

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/FR03/02028

INTERNATIONAL FILING DATE: June 30, 2003

FOR: LABELLED MALEIMIDE COMPOUNDS, PROCESS FOR PREPARING THEM AND
THEIR USE FOR LABELLING MACROMOLECULES**REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119**
AND THE INTERNATIONAL CONVENTIONCommissioner for Patents
Alexandria, Virginia 22313

Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that
the applicant claims as priority:**COUNTRY**
France**APPLICATION NO**
02 08203**DAY/MONTH/YEAR**
01 July 2002Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the
International Bureau in PCT Application No. PCT/FR03/02028. Receipt of the certified
copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been
acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.Respectfully submitted,
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.Norman F. Oblon
Attorney of Record
Registration No. 24,618
Surinder Sachar
Registration No. 34,423Customer Number
22850(703) 413-3000
Fax No. (703) 413-2220
(OSMMN 08/03)

ACT/FR 03 / 0 2 0 2 8



Rec'd FCT/PTO 22 DEC 2004

~~2~~

BREVET D'INVENTION

REC'D 06 OCT 2003

WIPO PCT

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 13 SEP. 2003

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Antibiotic

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIETE
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75600 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr



INSTITUT NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INTELLECTUELLE
26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ
Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



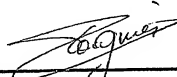
N° 11354° 01

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DR 540 W / 260899

REMISE DES PIÈCES DATE 1 JUIL 2002 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0208203 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI - 1 JUIL. 2002		5.1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE BREVATOME 3 rue du Docteur Lancereaux 75008 PARIS	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B 14000.3/PABD 1402			
Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie			
5.2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N° _____ Date ____/____/____	
ou demande de certificat d'utilité initiale		N° _____ Date ____/____/____	
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		<input type="checkbox"/> N° _____ Date ____/____/____	
5.3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) COMPOSES DE MALEIMIDES MARQUES, LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET LEUR UTILISATION POUR LE MARQUAGE DE MACROMOLECULES.			
5.4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5.5 DEMANDEUR		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
Nom ou dénomination sociale		COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE	
Prénoms			
Forme juridique		Etablissement public de caractère Scientifique, Technique et Industriel	
N° SIREN		
Code APE-NAF		
Adresse		31-33 rue de la Fédération	
Rue			
Code postal et ville		75752 PARIS 15ème	
Pays		FRANCE	
Nationalité		FRANCAISE	
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			

REMBSE DES PIÈCES		Réservé à l'INPI	
DATE		1 JUIN 2002	
LIEU		75 INPI PARIS	
N° D'ENREGISTREMENT		0208203	
NATIONAL ATTRIBUE PAR L'INPI			
Vos références pour ce dossier : (facultatif)		B 14000.3/PABD 1402	
MANDATAIRE			
Nom		AUDIER	
Prénom		Philippe	
Cabinet ou Société		BREVATOME 422.5/S002	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		7068 du 12.06.98	
Adresse	Rue	3 rue du Docteur Lancereaux	
	Code postal et ville	75008	PARIS
N° de téléphone (facultatif)		01.53.83.94.00	
N° de télécopie (facultatif)		01.45.63.83.33	
Adresse électronique (facultatif)		brevets.patents@brevalex.com	
INVENTEUR (S)			
Les inventeurs sont les demandeurs		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée	
RAPPORT DE RECHERCHE		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance		Paiement en trois versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non	
RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt (joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence) :	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) P. AUDIER 422-5 S/002		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI 	

COMPOSES DE MALEIMIDES MARQUES,
LEUR PROCEDE DE PREPARATION
ET LEUR UTILISATION POUR LE MARQUAGE DE MACROMOLECULES

DESCRIPTION

La présente invention a trait à des composés de maléimides marqués par le fluor-18.

L'invention concerne également un procédé de préparation de ces composés.

L'invention est enfin relative à l'utilisation de ces composés de maléimides, en particulier marqués au fluor-18, pour le marquage de macromolécules, telles que des oligonucléotides, des protéines, des anticorps et des peptides.

Le domaine technique de l'invention peut être défini, de manière générale, comme celui du marquage radioactif de macromolécules et, en particulier, de protéines et de peptides.

En effet, pour une utilisation dans la recherche ou le diagnostic les macromolécules, telles que les protéines ou encore les peptides peuvent être couplées à une molécule de marquage permettant leur détection, cette molécule de marquage peut être, par exemple, une molécule fluorescente, des particules d'or, un composé paramagnétique ou une molécule portant un radioélément.

Les protéines ont été marquées de manière radioactives par des radioisotopes, de l'iode et divers radioisotopes de métaux, tels que le technétium,

l'indium et le gallium. Plus récemment, les protéines ont été marquées avec du fluor-18.

Par exemple, les peptides couplées à des radioéléments, tels que le fluor, permettent une
5 détection « in vivo » de la localisation des zones thrombotiques lors d'accidents vasculaires de toutes sortes, en particulier des foyers apoptotiques et inflammatoires, en utilisant des systèmes d'imagerie.

Ainsi, les atomes radioactifs émetteurs de
10 positons à durée de vie courte et notamment le ^{18}F peuvent, en particulier, être détectés par les appareils de tomographie par émission de positons (TEP) (PET ou « Positon Emission Tomography »).

Le marquage radioactif par le fluor-18 pose,
15 notamment du fait de la très courte période du fluor-18 (voisine de 109,8 minutes) des problèmes spécifiques qui font que le marquage par le fluor-18 est fondamentalement différent de celui avec les autres halogènes, tels que l'iode.

20 Le couplage précité peut être réalisé par toutes les techniques classiques de chimie organique connues de l'homme du métier, et par la synthèse de marqueurs de protéines et de peptides portant un ou plusieurs atomes radioactifs à durée de vie courte en
25 particulier le ^{18}F . Ce marqueur est généralement constitué, d'une part, d'une partie capable de recevoir, par exemple, un atome de ^{18}F et, d'autre part, d'une partie comportant une fonction classique quelconque de liaison à la macromolécule, par exemple,
30 à la protéine.

Ces marqueurs doivent répondre à l'exigence d'une synthèse rapide et facile, car du fait de la courte durée de vie des radio isotopes tels que le ^{18}F , la durée de synthèse ne doit pas généralement excéder quelques heures.

En outre, cette synthèse, du fait de la haute radioactivité des composés mis en œuvre, doit pouvoir être réalisée par des moyens robotisés.

Ainsi, les procédés pour le marquage de protéines ou de peptides avec le fluor-18 font-ils appel à des marqueurs encore appelés « conjugués » ou « synthon » marqués, qui sont classés en trois familles principales, selon qu'ils réagissent avec les groupes amines, les groupes sulphydryles, ou les groupes carbohydrates des macromolécules, tels que les protéines et peptides.

Parmi les composés ou conjugués réagissant avec les groupes amino, on peut citer les imidates, tels que le 3- ^{18}F fluoro-5-nitrobenzoimide, qui réagissent, par exemple, avec le groupe $\varepsilon\text{-NH}_2$ de la lysine pour se lier à une protéine ; les esters activés, tels que le N-succinimidyl- ^{18}F fluorobenzoate ; les acides carboxyliques, tels que l'acide N-(4- ^{18}F fluorobenzoïque) ; les aldéhydes, telles que la 4- ^{18}F pentafluorobenzaldéhyde et les isothiocyanates, tels que le 4- ^{18}F fluorométhylphénylisothiocyanate).

Les halogénures activés, tels que le bromure de (4- ^{18}F fluorophénacyle), réagissent avec les groupes

amino, tels que le groupe ε -NH₂ de la lysine ou le groupe -SH de la cystéine.

Les amines, telles que la 1-(4-([¹⁸F]fluorométhyl)benzoyl)-aminobutane-4-amine
 5 réagissent avec les groupes CO₂H, par exemple de l'acide glutamique ou de l'acide aspartique ou avec les groupes CHO des glycoprotéines.

Les nitrènes avec des centres actifs photochimiques, tels que le fluorure [¹⁸F]
 10 d'azidophénacyle réagissent aussi avec les groupes amino, par exemple le groupe ε -NH₂ de la lysine.

Le procédé le plus efficace et le plus décrit pour marquer les protéines et peptides est celui qui met en œuvre des acides activés, mais c'est aussi le
 15 procédé qui présente la non-spécificité la plus grande car tous les sites nucléophiles des aminoacides des protéines ou peptides vont réagir avec le marqueur, conjugué, ou synthon marqué.

Deux procédés plus spécifiques pour marquer
 20 les peptides et les nucléotides présentent une bonne spécificité vis-à-vis des atomes de soufre, par exemple de la cystéine pour les peptides et d'une fonction phosphoro-thioate pour les nucléotides.

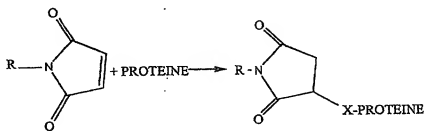
Il s'agit, tout d'abord, des procédés mettant
 25 en œuvre des « synthons » haloacétamides, qui, bien que satisfaisants, présentent l'inconvénient d'être très lents et donc peu adaptés au ¹⁸F, du fait de la période de celui-ci.

Il s'agit ensuite des procédés mettant en jeu
 30 des maléimides activés, qui peuvent se fixer sur les groupes SH avec une très bonne spécificité car la

réaction est très lente vis-à-vis, par exemple des sites $\epsilon\text{-NH}_2$ de la lysine.

Le schéma de la réaction impliquant le groupe maléimido est le suivant, dans le cas d'une protéine :

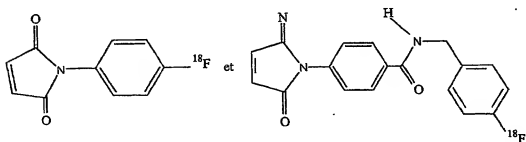
5



dans laquelle X représente -S-.

Pour tout marquage, quel qu'en soit le type, les molécules comprenant un radical maléimide sont, actuellement considérées comme étant les meilleures, pour ce qui est de leur réactivité avec les macromolécules, telles que les peptides ou les protéines.

Le document de SHIUE C.-Y. et al., J. Label Compounds Radiopharm 26 : 278-280 (1988), décrit les composés :



Le premier de ces composés n'est pas facile à marquer avec du fluor-18 à haute activité spécifique.

En effet, seul le fluor F_2 permettrait un marquage facile de (comme avec l'iode) et il se trouve précisément que F_2 est généralement un produit à basse activité spécifique.

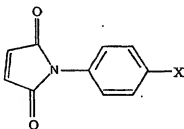
En particulier, le F_2 ne convient pas à la fabrication de composés dits « radiotraceurs » qui sont, préférentiellement, visés selon l'invention, tout simplement parce que la masse injectée de molécule marquée devient importante et que, alors, le principe de base régissant ce « traceur », à savoir l'occupation extrêmement faible (par exemple, inférieure à 5 %) des sites récepteurs, n'est pas respecté.

En outre, la synthèse du premier de ces composés est difficile, elle est, en effet, réalisée en quatre étapes nécessitant une durée importante avec des rendements très faibles, et des transformations chimiques relativement complexes. Ce procédé n'est donc pas susceptible d'être aisément automatisé.

Le second des composés cités dans le document de SHIUE et al. comporte une chaîne amide qui n'est pas chimiquement très solide et qui est facilement clivée, rompue, in vivo.

Sa mise en œuvre pour des applications de diagnostic n'est donc pas envisageable. En outre, la synthèse de ce second composé comprend trois étapes et le rendement final est faible, voisin, par exemple, de 10 % (EOB : « End Of Bombardment » en anglais, c'est-à-dire fin d'irradiation).

Le document US-A-4 735 792 est relatif à des molécules de formule :



5

dans laquelle X est un halogène radioactif choisi parmi le brome-75, le brome-76, le brome -82, l'iode-123, l'iode-125, l'iode-131 et le fluor-18.

10 Toutefois, seule la molécule marquée à l'iode-125 est effectivement préparée.

La préparation d'une molécule marquée au fluor-18 n'est ni mentionnée, ni évoquée, et les remarques déjà effectuées ci-dessus, en ce qui concerne le premier composé du document de SHIUE et al.,
15 s'appliquent aussi dans le cadre du document US-A-4 735 792.

L'homme du métier, à la lecture de ce document, ne possède aucune information lui permettant de préparer spécifiquement un composé marqué au
20 fluor-18 et s'il envisage de le faire, il mettrait en œuvre du F₂ et aboutirait ainsi à un composé de faible activité spécifique, inutilisable en imagerie « PET ».

On peut en outre, considérer que la chimie mise en œuvre pour fabriquer le composé fluoré du
25 document US-A-4 735 792 est une chimie complexe et longue.

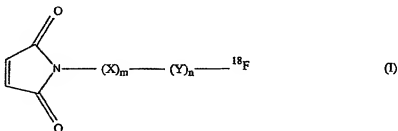
Il existe donc un besoin pour des composés de maléimides marqués au fluor-18, qui présentent une forte réactivité, une grande sélectivité ainsi qu'une bonne activité spécifique.

Il existe encore un besoin pour des composés de maléimide marqués au fluor-18, qui puissent être fabriqués à un haut rendement par un procédé simple, fiable, facilement automatisable, robotisable, rapide et de courte durée.

Le but de la présente invention est de fournir un composé de maléimide marqué au fluor-18 qui réponde, entre autres à ces besoins.

Le but de la présente invention est encore de fournir un composé de maléimide marqué au fluor-18, qui ne présente pas les inconvénients, défauts, limitations et désavantages des composés de l'art antérieur et qui résolve les problèmes de l'art antérieur.

Ce but, et d'autres encore sont atteints, conformément à l'invention, en fournissant un composé de formule générale (I) :



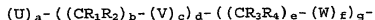
dans laquelle :

- m représente un nombre entier de 0 à 10, tel que 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ;

- n représente un nombre entier de 0 à 10, tel que 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ;

- Y représente un groupe choisi parmi les groupes alkyle, les groupes hétérocycliques monocycliques ou bicycliques choisis parmi les groupes imidazolyle, pyrazolyle, benzimidazolyle, pyridinyle, piridazinyle, pyrimidinyle, pyrazinyle, triazinyle, quinolinyle, isoquinolinyle, cinnolinyle, quinazolinyle, quinoxalinyle, purinyle, Y pouvant être, éventuellement, substitué par un ou plusieurs substituants, chacun de ces substituants étant indépendamment choisi parmi l'hydrogène, les halogènes (non radioactifs), les groupes phényle, alkyle en C₁₋₆, alcoxy en C₁₋₆, aryloxy, amino, mono- ou di(alkyle en C₁₋₆)amino, mono- ou di(aryl)amino, thio, alkyle en C₁₋₆-thio, arylthio, formyle, alkyle en C₁₋₆-carbonyle, arylcarbonyle, carbonyle, alcoxy en C₁₋₆-carbonyle, aryloxy-carbonyle, alkyle en C₁₋₆-aminocarbonyle, arylaminocarbonyle, trifluorométhyle ;

- X représente un radical de formule :



dans laquelle :

- a, b, c, d, e, f, g représentent chacun indépendamment un nombre entier de 0 à 10, tel que 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ;

- U, V et W représentent chacun indépendamment -NR₁-, -O-, -S-, $\begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{---N---} \end{array}$, éthyne, -CR₁=CR₂-, -(C=O)-, -(C=S)-, -C(=NR₁)-, -C(=O)O-,

- (C=S)S-, -C(=NR₁)NR₂-, -CR₁R₂-, -CR₁OR₂-, -CR₁NR₂R₃-, où
 R₁, R₂, R₃ et R₄ sont chacun indépendamment choisis
 parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes phényle,
 alkyle en C₁₋₆, alcoxy en C₁₋₆, aryloxy, amino, mono- ou
 5 di(alkyle en C₁₋₆)amino, mono- ou di(aryl)amino, thio,
 alkyle en C₁₋₆-thio, arylthio, formyle, alkyle en
 C₁₋₆-carbonyle, arylcarbonyle, carbonyle alcoxy en
 C₁₋₆-carbonyle, aryloxy-carbonyle, alkyle en
 C₁₋₆-aminocarbonyle, arylaminocarbonyle,
 10 trifluorométhyle.

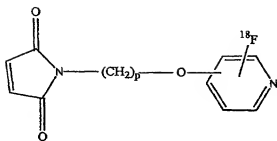
Généralement, dans la présente description,
 halogène signifie fluor, chlore, brome ou iode. C₁₋₆
 alkyle correspond aux radicaux hydrocarbonés saturés à
 chaînes linéaires et ramifiées ayant de 1 à 6 atomes de
 15 carbone, tels que méthyle, éthyle, propyle, butyle,
 pentyle et hexyle.

Le rattachement et la substitution des
 hétérocycles, groupe aryle, etc., peut se faire en une
 position quelconque.
 20 De même, le rattachement du ¹⁸F sur Y ou X
 peut se faire en une position quelconque, en
 particulier sur une position quelconque sur un
 hétérocycle.

Avantageusement, dans le composé de formule
 25 (I) ci-dessus, n=1, et Y est un groupe 3-pyridinyle.

Les composés de formule (I) peuvent
 appartenir à diverses familles, une première famille
 peut être définie comme celle des « éthers d'alkyle »,
 qui répondent à la formule (II) suivante :

30



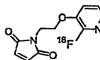
(II)

dans laquelle p est un nombre entier de 1 à 10, tel que 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou 9.

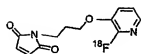
5 Les composés préférés de formule (II) sont choisis parmi les composés suivants :



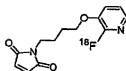
1-[(2-[^{18}F] fluoro-pyridin-3-yloxy)-methyl]-pyrrole-2,5-dione



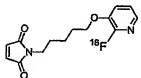
1-[2-(2-[^{18}F] fluoro-pyridin-3-yloxy)-ethyl]-pyrrole-2,5-dione



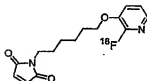
1-[3-(2-[^{18}F] fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-dione



1-[4-(2-[^{18}F] fluoro-pyridin-3-yloxy)-butyl]-pyrrole-2,5-dione



1-[5-(2-[^{18}F] fluoro-pyridin-3-yloxy)-pentyl]-pyrrole-2,5-dione

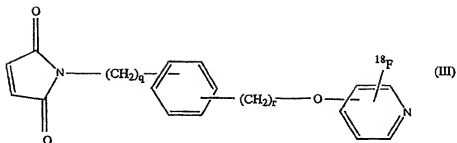


1-[6-(2-[^{18}F] fluoro-pyridin-3-yloxy)-hexyl]-pyrrole-2,5-dione

5

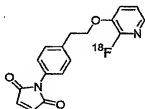
Une deuxième famille de composés de formule (I) peut être définie comme celles des « éthers de phénylalkyle », qui répondent à la formule (III) suivante :

10

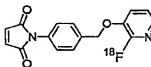


dans laquelle q et r représentent indépendamment un
 nombre entier de 0 à 10, tels que 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6,
 5 7, 8, 9.

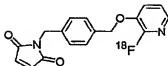
Les composés préférés de formule (III) sont
 choisis parmi les composés suivants :



1-[4-(2-(2-[¹⁸F]Fluoro-pyridin-3-yloxy)-ethyl)-phenyl]-
 pyrrole-2,5-dione



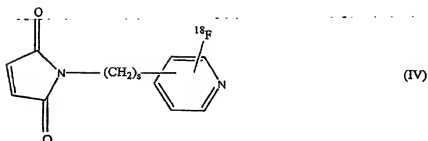
1-[4-(2-[¹⁸F]Fluoro-pyridin-3-yloxymethyl)-phenyl]-
 pyrrole-2,5-dione



1-[4-(2-[¹⁸F]Fluoro-pyridin-3-yloxymethyl)-benzyl]-
 pyrrole-2,5-dione

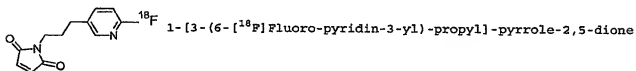
10

Une troisième famille est celle des composés qui
 répondent à la formule (IV) suivante :

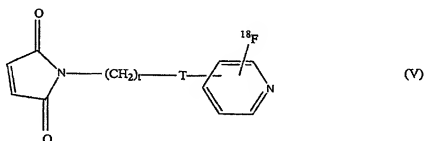


dans laquelle s est un nombre entier de 1 à 10, tel que
2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

5 Un composé préféré de formule (IV) est le
composé suivant :

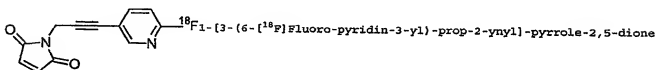
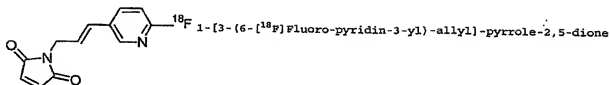


10 Une quatrième famille est celle des
composés qui répondent à la formule (V) suivante :



15 dans laquelle t est un nombre entier de 0 à 10, tel que
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 et T est un groupe -CH=CH- ou
-C≡C-.

Des composés préférés de formule (V) sont les composés suivants :



Les composés selon l'invention n'ont jamais
5 été décrits, ni évoqués, dans l'art antérieur.

Les composés selon l'invention se distinguent fondamentalement des composés de l'art antérieur, du fait de leur structure spécifique, dans laquelle la partie portant l'atome de fluor-18 est
10 constituée, selon l'invention, par un groupe Y spécifique qui est notamment un groupe pyridinyle, la partie de liaison, de couplage à une macromolécule, telle qu'une protéine ou un peptide, est constituée, selon l'invention par une fonction spécifique, à savoir
15 une fonction maléimido, et, enfin, la partie de liaison à une macromolécule et la partie portant l'atome de fluor-18 sont reliées selon l'invention par une chaîne ou bras espaceur de nouveau spécifique, par exemple de type alkyle (généralement de 2 à 6C), éther d'alkyle,
20 éthers de phénylalkyle, alcényle, qui ne sont pas fragiles et ne sont pas susceptibles de ruptures « in vivo ».

L'invention concerne l'utilisation d'un composé, tel que décrit ci-dessus pour le marquage de macromolécules.

Cette macromolécule peut être toute
5 macromolécule, en particulier biologique connue, mais elle peut être choisie, par exemple, parmi les oligonucléotides, les protéines, les anticorps et les peptides. Ladite macromolécule est avantageusement une
10 macromolécule de reconnaissance d'un site spécifique choisi, de préférence, parmi les sites présentant des molécules cibles spécifiques d'une pathologie, tels que les sites d'apoptose, de nécrose ou de zone tumorale.

L'invention a également trait à un complexe comprenant une macromolécule couplée à un composé selon
15 l'invention, tel qu'il a été décrit ci-dessus.

Ladite macromolécule est choisie, de préférence, parmi les oligonucléotides, les protéines, les anticorps et les peptides.

Ledit couplage est réalisé par réaction de
20 la double liaison du groupe maléimido du composé selon l'invention avec spécifiquement une fonction -SH(thiol) de la cystéine dans le cas d'un peptide, ou une fonction phosphoro-thioate dans le cas d'un oligonucléotide.

C'est là un des avantages liés à la
25 structure spécifique des composés selon l'invention que de permettre un marquage spécifique, voire exclusif, des cystéines, alors que la plupart des autres « synthons » ne permettent qu'un marquage
30 non-spécifique des lysines et des cystéines.

Le marquage sélectif, voire exclusif, des cystéines est dû à la présence dans la molécule de l'invention d'une fonction « dédiée », à savoir la fonction maléimido, qui est une fonction dédiée pour la chemio-sélectivité envers les thiols des cystéines, ou de manière analogue envers les fonctions phosphoro-thioates.

Le marquage ou couplage, via la cystéine, peut être un marquage ou couplage direct, c'est-à-dire que la cystéine existe déjà dans la macromolécule que l'on souhaite coupler au composé selon l'invention, soit la cystéine ou une molécule (peptide) la comprenant, peut être introduite (couplée préalablement ou non aux composés de l'invention) dans la macromolécule qui ne comprenait pas de cystéine et on réalise ensuite le couplage si celui-ci n'a pas été réalisé au préalable sur la cystéine ou la molécule la comprenant.

La cystéine ou molécule la comprenant peut, par exemple, être introduite « à façon » dans la macromolécule par ingénierie des protéines/peptides dans une position qui ne rentre pas en compétition avec, ou ne perturbe pas la fonction biologique.

Ladite macromolécule est avantageusement une macromolécule de reconnaissance d'un site spécifique, telle que décrite ci-dessus. Le couplage, c'est-à-dire le marquage est, de préférence, tel qu'il n'affecte pas l'activité de reconnaissance de la cible, du site, par la macromolécule.

L'invention concerne aussi une trousse d'analyse et de détection, par exemple pour l'imagerie

médicale comprenant un composé selon l'invention et une macromolécule.

L'invention a trait également à une trousse d'analyse et de détection, par exemple pour l'imagerie médicale, comprenant un composé selon l'invention couplé à une macromolécule, c'est-à-dire un complexe selon l'invention.

L'invention concerne aussi une trousse de diagnostic comprenant un composé selon l'invention et une macromolécule.

L'invention a trait, en outre, à une trousse de diagnostic comprenant un complexe, tel que décrit plus haut.

L'invention concerne enfin l'utilisation du complexe ou du composé, tels que décrits plus haut, dans un procédé d'imagerie médicale, tel que la tomographie par émission de positons (TEP) et l'utilisation d'un complexe ou d'un composé selon l'invention pour fabriquer un produit destiné à l'imagerie médicale, par exemple à la tomographie par émission de positons (TEP).

Enfin, l'invention est relative à un produit pour l'imagerie médicale, en particulier la tomographie par émission de positons (TEP) comprenant un complexe ou un composé tel que décrit plus haut et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

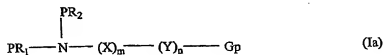
Dans leur application, dans le cadre de la « TEP », les composés et complexes, selon l'invention, comprenant un atome de fluor-18 montrent de nombreux avantages par rapport aux composés avec un autre halogène radioactif, par exemple l'iode.

En effet, le seul isotope de l'iode émetteur de positons est l'iode-124, qui pourrait permettre la TEP.

Mais, il reste produit à de faibles quantités (qques mCi contre des curies pour le F-18). Il est aussi difficile à produire. Enfin, l'iode-124 n'est pas un émetteur de positons pur (contrairement au fluor-18, 97 %) et décroît par émission beta+ à 25 % seulement et par capture électronique à 75 % ; il possède un grand nombre de raies gamma allant de 0,603 MeV (62 %) à 2,75 MeV (1 %).

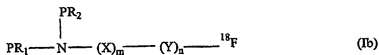
L'invention est également relative à un procédé de préparation d'un composé de formule (I), tel que décrit plus haut, dans lequel :

a) on met en contact un composé précurseur de formule (Ia) :



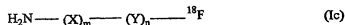
dans laquelle PR_1 et PR_2 représentent indépendamment un atome d'hydrogène ou un groupe protecteur de la fonction amine, à la condition que PR_1 et PR_2 ne soient pas tous deux (simultanément) un atome d'hydrogène, ou bien PR_1 et PR_2 forment ensemble avec l'atome d'azote un groupe protecteur cyclique de la fonction amine, Gp représente un groupe partant susceptible d'être remplacé par un atome de fluor-18, et X, Y, m et n ont la signification déjà donnée plus haut ; avec une

source d'ions fluorure F^- marqués au $[^{18}F]$, pour donner un composé de formule (Ib) :



5

b) on élimine dans le composé (Ib), le ou les groupe(s) protecteur(s) PR_1 et/ou PR_2 de la fonction amine pour donner un composé de formule (Ic) :



10

c) on fait réagir le composé (Ic) avec un réactif susceptible de donner un groupe maléimido à partir d'un groupe amino, pour obtenir le composé final de formule (I).

15

Le procédé selon l'invention est simple, fiable, facile à mettre en œuvre et peut être aisément robotisé. Il comporte seulement trois étapes dont l'une est une étape extrêmement simple de déprotection.

20

La durée globale du procédé est faible : à titre d'exemple, elle est généralement de 60 à 120 minutes, de préférence de 75 à 85 minutes.

25

L'incorporation de l'halogène fluor-18 est réalisée de manière extrêmement efficace avec un fort rendement, par exemple 70 à 100 %, du fait, en particulier, qu'il est effectué sur un groupement hétérocyclique, tel que la pyridine.

Le rendement final de l'ensemble du procédé pour un produit purifié est extrêmement élevé, par exemple de 15 % à 25 % et les quantités potentielles de composé « synthon », en fin de synthèse, sont également
 5 très importantes.

Dans le composé (Ia), les groupes PR_1 et PR_2 lorsqu'ils sont des groupes protecteurs peuvent être tout groupe protecteur connu en chimie organique. Ils sont choisis, de préférence, parmi les groupes
 10 tertibutoxycarbonyle (BOC) et fluorenylmethoxy carbonyle (FMOC).

Lorsque PR_1 et PR_2 forment ensemble avec l'atome d'azote de la fonction amine, un groupe protecteur de celle-ci, ce groupe protecteur peut être,
 15 par exemple, un groupe phtalimido.

Dans le composé (Ia), le groupe Gp peut être tout groupe partant susceptible d'être remplacé par un atome de fluor-18 ; Gp est choisi, de préférence, parmi les halogènes, tels que F, Cl, Br, I,
 20 les groupes mésyle, tosylé et triflate, lorsque Y est un groupe alkyle ; et Gp est choisi, de préférence, parmi les halogènes, les sels d'ammonium, tel que le triméthylammonium-trifluorométhane sulfonate, et le groupe nitro, lorsque Y est un groupe aromatique ou
 25 hétérocyclique.

Dans l'étape a), la source d'ions fluorure marqués au ^{18}F comprend lesdits ions fluorure et un contre-ion, choisi parmi les cations de grande taille, tels que le rubidium, et le tétrabutylammonium, et les
 30 cations de petite taille, tels que le potassium, le sodium et le lithium, lesdits cations de petite taille

étant piégés, stabilisés, par exemple, par un cryptand ou un éther couronné, etc., l'edit cryptand ou éther couronné étant adapté au cation de petite taille mis en œuvre.

5 Un exemple de cryptand est le produit KRYPTOFIX® K₂₂₂ : (4, 7, 13, 16, 21, 24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosane) qui piège, par exemple, l'ion potassium.

10 Le contre-ion ou cation peut être amené sous la forme d'un sel quelconque, par exemple, il peut s'agir de K₂CO₃, dans le cas du potassium.

L'étape a) est généralement réalisée dans un solvant, qui peut être tout solvant adéquat, tel que le DMSO.

15 L'étape a) peut être réalisée dans des conditions connues de l'homme du métier, avec un chauffage généralement à une température de 50 à 200°C, par exemple, 145°C, pendant une durée généralement de 1 à 30 minutes, par exemple de 4 à 6 minutes.

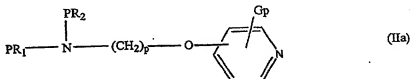
20 L'étape b) d'élimination du groupe protecteur de la fonction amine, de déprotection, pour donner le composé de formule (Ic), où le groupe amino est libre, peut être réalisée par tout procédé de déprotection connu. On pourra, par exemple, mettre le
25 composé (Ib) en contact avec du TFA dans le CH₂Cl₂, pendant une durée généralement de 1 à 5, par exemple de 2 minutes. Il est à noter que le TFA est utilisé généralement uniquement si le groupe protecteur est enlevé en milieu acide, par exemple lorsque PR₁ = BOC
30 et PR₂ = H.

Dans l'étape c), le réactif susceptible de donner un groupe maléimido à partir d'un groupe amido peut être tout composé connu. Il pourra ainsi être choisi parmi la N-méthoxycarbonylmaléimide et la succinimide.

L'étape c) peut être réalisée dans des conditions connues de l'homme du métier, par exemple dans un solvant, tel que le xylène, le THF, avec un chauffage généralement à une température de 100 à 200°C, par exemple de 190°C, pendant une durée de 1 à 20 minutes, par exemple de 5 minutes.

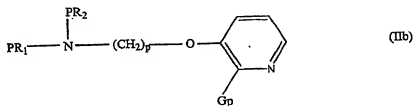
Le composé de formule (Ia) peut répondre à la formule (IIa) suivante :

15

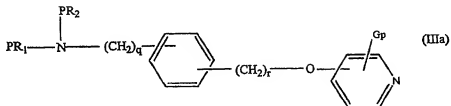


Le composé (IIa) répond, de préférence, à la formule (IIb) suivante :

20

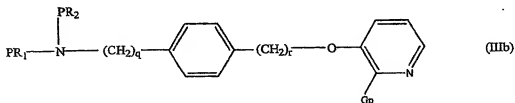


Le composé de formule (Ia) peut, dans un autre mode de réalisation, répondre à la formule (IIIa) suivante :



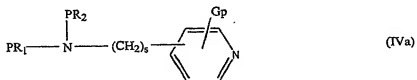
5

Le composé (IIIa) répond, de préférence, à la formule (IIIb) suivante :

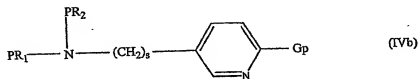


10

Le composé de formule (Ia) peut, dans encore un autre mode de réalisation, répondre à la
15 formule (IVa) suivante :

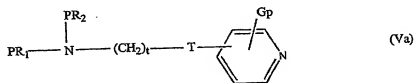


Le composé (IVa) répond, de préférence, à la formule (IVb) suivante :



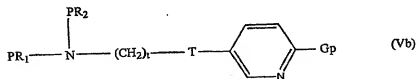
5

Dans un autre mode de réalisation, le composé de formule (Ia) peut répondre à la formule (Va) suivante :



10

Le composé (Va) répond, de préférence, à la formule (Vb) suivante :



15

L'invention concerne également les composés précurseurs de formules (Ia), (IIa), (IIb), (IIIa), (IIIb), (IVa), (IVb), (Va), (Vb), tels qu'ils ont été décrits plus haut, en tant qu'intermédiaires de

synthèse pour les composés de formules (I) à (V) selon l'invention.

Les composés précurseurs peuvent être choisis, en particulier, parmi les composés finaux
5 définis, énumérés, plus haut, dans lesquels le [^{18}F] est remplacé par un halogène non radioactif, tel que ^{19}F , Cl, Br, I, un sel d'ammonium, tel que le triméthylammonium-trifluorométhanesulfonate ou un groupe NO_2 et le groupe 1-pyrrole-2,5-dione est
10 remplacé par un groupe tertbutoxycarbonylamino.

Des composés précurseurs préférés sont, par exemple le [3-(3-tert-butoxycarbonylamino-propoxy)-pyridin-2-yl]-triméthyl-ammonium trifluorométhane
sulfonate ; et l'ester de tertiobutyle de l'acide
15 [3-(2-nitro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-carbamique.

L'invention va maintenant être exposée de manière plus détaillée dans la description qui suit, donnée à titre illustratif et non limitatif, en relation avec des exemples de préparation de composés
20 selon l'invention, ainsi que de complexes selon l'invention.

Conditions des expériences

25 Produits chimiques, chromatographie en couche mince (CCM « TLC ») et chromatographie liquide haute pression (« HPLC »).

On s'est procuré les produits chimiques
30 auprès de divers fournisseurs (ALDRICH, FLUKA ou SIGMA France) et ils ont été utilisés sans purification plus

poussée, sauf lorsque cela est mentionné. Les CCM sont réalisées sur des plaques revêtues, au préalable, de gel de silice 60F₂₅₄ de chez MERCK. Les composés ont été localisés (1) si possible à 254 nm, en utilisant une
 5 lampe à UV et/ou (2) par coloration par l'iode et/ou (3) en trempant les plaques de CCM dans une solution éthanolique à 1 % de ninhydrine (ou une solution aqueuse à 1 % de KMnO₄) et en chauffant sur une plaque chauffante. Les points, taches ou « spots »,
 10 radioactifs sont détectés en utilisant un appareil d'analyse linéaire automatique BERTHOLD TRACE MASTER 20.

Spectroscopies

15

Les spectres RMN sont enregistrés sur un appareil BRUKER AMX (300 MHz), utilisant le résidu hydrogéné des solvants deutérés (DMSO-d₆, δ : 2,50 ppm ;
 CD₂Cl₂, δ : 5,32 ppm ; CD₃OD, δ : 4,78 ; CD₃CN, δ :
 20 1,93 ppm) et/ou le TMS en tant qu'étalons internes pour la RMN ¹H, et les solvants deutérés (DMSO-d₆, δ : 39,5 ppm ; CD₂Cl₂, δ : 53,8 ppm ; CD₃OD, δ : 49,3 ppm) et/ou le TMS, comme étalons internes pour la RMN ¹³C.

Les déplacements chimiques sont donnés en
 25 ppm avec comme référence le TMS (tétraméthylsilane), dont le déplacement chimique est fixé à 0. s, d, t, dd, q, q5, m, b représentent singulet, doublet, triplet, doublet de doublet, quadruplet, quintuplet, multiplet, et large respectivement). Les spectres de masse
 30 (« MS ») sont mesurés sur un appareil Quadripolaire Finnigan 4 600 (DCI/NH₄⁺).

Production de l'isotope radioactif

Des ions fluorure [^{18}F] aqueux ont été
5 préparés dans un cyclotron CGR-MeV 520 par irradiation
d'une cible d'eau de 2 mL, en utilisant un faisceau de
protons de 20 MeV sur de l'eau enrichie en [^{18}O] à 95 %
par la réaction nucléaire [$^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$]. Les ions
fluorure ont été transférés dans la cellule blindée
10 adéquate. Production typique : 550-650 mCi (20,3 à 24,0
GBq) de [^{18}F] F^- à la fin du bombardement pour une
irradiation de 20 μA , 30 minutes (36 000 μC).

Divers

15

Les radiosynthèses utilisant le fluor-18, y
compris les purifications par HPLC semi-préparative ont
été réalisées dans une cellule de 7,5 cm blindée au
plomb, en utilisant un système robot ZYMATE piloté par
20 ordinateur (de chez ZYMACK CORP., USA). L'activation
aux micro-ondes est réalisée avec un four MICROWELL 10
(2,45 GHz), fourni par LABWELL AB, Suède.

La radioactivité spécifique est déterminée
comme suit : la surface des pics d'absorbance UV,
25 correspondant au produit radiomarké, est mesurée sur
le chromatogramme de HPLC et comparée à une courbe
étalon donnant la masse, en fonction de l'absorbance
UV.

Exemple 1

Mode opératoire général pour le couplage de
 MITSUNOBU du 3-(N-tert-butylcarbonylamino)-1-propanol
 5 avec divers dérivés 3-hydroxypyridine substitués en 2.

A une solution de 3,0 g de
 triphénylphosphine (masse moléculaire : 262,69 ;
 11,4 mmol) dans le THF (60 mL), on ajoute 1,8 mL
 10 d'azocarboxylate de diéthyle (DEAD, masse moléculaire :
 174,16 ; d : 1,106 ; 11,4 mmol ; 1 éq). Après agitation
 à 0°C pendant 10 à 15 minutes, on ajoute 1,95 mL de
 3-(N-tert-butoxycarbonylamino)-1-propanol (masse
 moléculaire : 175,23 ; d : 1,025 ; 11,4 mmol ; 1 éq) et
 15 le dérivé de 3-hydroxypyridine substitué en 2
 (11,4 mmol ; 1 éq). Le mélange est agité à température
 ambiante pendant une nuit, puis concentré jusqu'à
 siccité. Le résidu est repris avec du CH_2Cl_2 et la
 solution obtenue est lavée avec une solution aqueuse à
 20 10 % de NaHCO_3 , de l'eau, de la saumure, et séchée avec
 Na_2SO_4 avant concentration jusqu'à siccité. Le résidu
 est chromatographié sur gel de silice pour donner le
 dérivé souhaité : 3-[3-(N-tertbutyloxycarbonylamino)-
 1-propoxy]pyridine (ou ester de tertiobutyle de l'acide
 25 [3-(pyridin-3-yloxy)-propyl]carbamique).

Exemple 2

Mode opératoire général pour la
déprotection par le TFA des fonctions
5 N-tertbutoxycarbonylamino.

A de 3 à 7 mmoles de l'ester de
terbiobutyle de l'acide [3-(pyridin-3-yloxy)-propyl]-
carbamique adéquat dans 5 mL de CH_2Cl_2 , on ajoute 2 mL
10 de TFA. La solution est agitée pendant 45 minutes à la
température ambiante et concentrée jusqu'à siccité.

Le résidu est redissous dans 2 mL de CH_2Cl_2 et
concentré de nouveau à siccité (2 fois) pour donner le
3-(pyridine-3-yloxy)-propylamine, sous la forme d'un
15 résidu huileux.

Exemple 3

Mode opératoire général pour la formation
20 du maléimido.

A de 2 à 3 mmoles de la
3-(pyridin-3-yloxy)-propylamine adéquate dans 5 ml de
THF, on ajoute successivement 500 mg d'anhydride
25 maléique (masse moléculaire : 98,06 ; 5,1 mmoles) et
200 mg d'acide p-toluènesulfonique hydraté (masse
moléculaire : 190,22 ; 1,0 mmoles). La solution est
mise à reflux pendant 24 heures et concentrée à
siccité. Le résidu est chromatographié sur du gel de
30 silice pour donner le dérivé de

1- [3- (pyridin-3-yloxy) -propyl] -pyrrole-2,5-dione
souhaité.

Exemple 4

5

Préparation de la 2-fluoro-3-hydroxypyridine

A 100 mL d'hydrogénofluorure de pyridine
(Py.(HF)_x, de chez FLUKA, 70 % de l'échantillon
10 constitués de fluorure d'hydrogène, 30 % de
l'échantillon constitués de pyridine) refroidis à 0°C,
on ajoute successivement et avec précaution 3,7 g de
2-amino-3-hydroxypyridine (masse moléculaire : 110,12 ;
33,6 mmol) et 3 g de NaNO₂ (masse moléculaire : 69,00 ;
15 43,5 mmol). Le mélange est agité à 0°C pendant 1 heure,
puis lentement rendu basique avec une solution aqueuse
de NaOH, 10 N, transférée dans un décanteur et extrait
avec EtOAc. Les phases organiques sont combinées,
lavées avec de l'eau, de la saumure, séchées avec du
20 Na₂SO₄ et concentrées à siccité. Le résidu est purifié
par passage à travers une colonne de gel de silice
(éluant : heptane/EtOAc : 50/50) pour donner 2,5 g
(65 %) de 2-fluoro-3-hydroxypyridine sous la forme d'un
solide qui est utilisé sans purification plus poussée.

25

Rf(EtOAc/heptane : 80/20) : 0,65 mp :
131°C. ¹H NMR (DMSO-d₆, 298K) : δ : 10,41 (s, 1H) ; 7,64
(td, J : 1,7 & 4,7 Hz, 1H) ; 7,42 (dd, J : 1,7, 1,7 &
10,8 Hz, 1H) ; 7,17 (ddd, J : 1,3, 4,7 & 7,8 Hz, 1H).
30 ¹³C NMR (DMSO-d₆, 298K) : δ : 152,8 (d, J¹_{F-C} : 233 Hz,
C) ; 140,2 (d, J²_{F-C} : 27 Hz, C) ; 135,6 (d, J³_{F-C}) :

13 Hz, CH) ; 126,2 (d, $J_{\text{F-C}} : 5 \text{ Hz}$, CH) ; 122,6
(CH).MS⁺(DCI/NH₄⁺) : C₅H₄FNO : 131[M⁺+ NH₄⁺] ; 114[M⁺+H⁺].
Anal.(C₅H₄FNO) C, H, N.

5

Exemple 5

Dans cet exemple, on décrit la préparation
d'une molécule de référence qui est la
1-[3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-
10 dione, dans laquelle le fluor n'est pas du fluor
radioactif, mais du ¹⁹F.

a) Préparation de l'ester de tertiobutyle
de l'acide [3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-
15 carbamique.

Le mode opératoire décrit ci-dessus dans
l'exemple 1 est utilisé avec la
2-fluoro-3-hydroxypyridine préparée dans l'exemple 4
20 (1,29 g ; 11,4 mmol) pour donner 1,9 g (62 %) de
l'ester de tertiobutyle de l'acide
[3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)- propyl]-carbamique sous
la forme d'une huile jaune, après chromatographie
« flash » (éluant : CH₂Cl₂ pur, heptane/EtOAc : 70/30 à
25 50/50).

Rf(CH₂Cl₂/EtOAc : 95/5) : 0,45. ¹H NMR
(CD₂Cl₂, 298K) : δ : 7,68 (dt, J : 4,8 & 1,8 Hz, 1H) ;
7,28 (td, J : 7,8 & 1,5 Hz, 1H) ; 7,10 (dd, J : 5,1 &
30 0,9 Hz, 1H) ; 4,96 (b, w_{1/2} : 20 Hz, 1H) ; 4,07 (t, J :
6,0 Hz, 2H) ; 3,28 (q, J : 6,0 Hz, 2H) ; 1,98 (q^s, J :

6,0 Hz, 2H) ; 1,39 (s, 9H). ^{13}C NMR (CD_2Cl_2 , 298K) : δ :
 156,3 (C) ; 154,1 (d, $J_{\text{F-C}}$: 235 Hz, C) ; 142,5 (d,
 $J_{\text{F-C}}$: 25 Hz, C) ; 137,5 (d, $J_{\text{F-C}}$: 13 Hz, CH) ; 123,0
 (CH) ; 122,2 (CH) ; 79,2 (C) ; 67,3 (CH_2) ; 38,0 (CH_2) ;
 5 29,8 (CH_2) ; 28,5 (CH_3).

b) Préparation de la
 3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)-propylamine.

10 Le mode opératoire décrit ci-dessus dans
 l'exemple 2 est utilisé avec l'ester de tertiobutyle de
 l'acide [3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-
 carbamique préparée en a) (1,0 g ; masse moléculaire :
 270,30 ; 3,7 mmol) pour donner 1,4 g/95 %) de
 15 3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)- propylamine.2TFA, sous la
 forme d'une huile jaune.

^1H NMR (CD_3OD , 298K) : δ : 7,51 (bt,
 $J < 2,0$ Hz, 1H) ; 7,36 (bt, $J < 3,0$ Hz, 1H) ; 7,04 (bq,
 20 $J < 3,0$ Hz, 1H) ; 4,03 (t, J : 6,0 Hz, 2H) ; 2,99 g (Q,
 J : 6,0 Hz, 2H) ; 2,01 (q^5 , J : 6,0 Hz, 2H). ^{13}C NMR
 (CD_3OD , 298K) : δ : 159,3 (q, $J_{\text{F-C}}$: 41 Hz, C, $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$) ;
 155,3 (d, $J_{\text{F-C}}$: 237 Hz, C) ; 143,5 (d, $J_{\text{F-C}}$: 24 Hz,
 C) ; 138,5 (d, $J_{\text{F-C}}$: 13 Hz, CH) ; 125,1 (CH) ; 123,8
 25 (CH) ; 116,4 (q, $J_{\text{F-C}}$: 284 Hz, C, CF_3 , CO_2H) ; 67,9
 (CH_2) ; 38,6 (CH_2) ; 29,4 (CH_2).

c) 1-[3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]
 -pyrrole-2,-5 dione.

30

Le mode opératoire, décrit ci-dessus dans l'exemple 3, est utilisé avec la 3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)-propylamine. 2TFA (1,0 g ; masse moléculaire : 398,23 ; 2,5 mmol) pour donner 5 310 mg (48 %) de 1-[3-(2-fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-dione, sous la forme d'une poudre jaune, après chromatographie « flash » (éluant : heptane/EtOAc : 50 : 50 à 30/70). A des fins d'analyse, une fraction aliquote (100 mg) a été purifiée de 10 nouveau par HPLC préparative ou semi-préparative.

Rf(EtOAc) : 0,7 Rf(EtOAc/heptane : 80/20) : 0,5. ^1H NMR (CD_2Cl_2 , 298K) : δ : 7,69 (bd, J : 3,0 Hz, 1H) ; 7,27 (t, J : 6,0 Hz, 1H) ; 7,11 (dd, 15 J : 3,0 & 6,0 Hz, 1H) ; 6,69 (s, 2H) ; 4,05 (t, J : 6,0 Hz, 2H) ; 3,82 (t, J : 6,0 Hz, 2H) ; 2,11 (q^5 , J : 6,0 Hz, 2H). ^{13}C NMR (CD_2Cl_2 , 298K) : δ : 171,2 (2xC) ; 154,0 (d, $J^{1\text{F}-\text{C}}$: 235 Hz, C) ; 142,4 (d, $J^{2\text{F}-\text{C}}$: 25 Hz, C) ; 137,7 (d, $J^{3\text{F}-\text{C}}$: 13 Hz, CH) ; 134,5 (2xCH) ; 123,2 20 (CH) ; 122,2 (CH) ; 67,5 (CH_2) ; 35,4 (CH_2) ; 28,5 (CH_2). MS (DCI/NHR $^+$) : $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_3$: 251 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Exemple 6

25 Préparation de l'ester de tertibutyle de l'acide [3-(2-nitro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-carbamique.

Le mode opératoire décrit ci-dessus dans 30 l'exemple 1 est utilisé avec la 2-nitro-3-hydroxy pyridine (1,6 g ; masse moléculaire : 140,10 ;

11,4 mmol) pour donner 2,2 g (65 %) de l'ester de tertio-butyle de l'acide [3-(2-nitro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-carbamique sous la forme d'une huile jaune, après chromatographie « flash » (éluant :
 5 heptane/EtOAc : de 60/40 à 40/60). A des fins d'analyse, une fraction aliquote (100 mg) est purifiée de nouveau sur un appareil de HPLC préparative ou semi-préparative.

10 Rf(EtOAc/heptane : 50/50) : 0,35. ^1H NMR (CD_2Cl_2 , 298K) : δ : 8,04 (t, J : 3,0 Hz, 1H) ; 7,53 (d, J : 3,0 Hz, 2H) ; 4,95 (b, $w_{1/2}$: 15 Hz, 1H) ; 4,18 (t, J : 6,0 Hz, 2H) ; 3,26 (q, J : 6,0 Hz, 2H) ; 1,99 (q^5 , J : 6,0 Hz, 2H) ; 1,40 (s, 9H). ^{13}C NMR (CD_2Cl_2 , 298K) :
 15 δ : 156,3 (C) ; 149,2 (C) ; 147,3 (C) ; 139,5 (CH) ; 129,2 (CH) ; 124,0 (CH) ; 79,2 (C) ; 68,3 (CH_2) ; 37,9 (CH_2) ; 29,5 (CH_2) ; 28,4 (CH_3).

Exemple 7

20

Dans cet exemple, on décrit la préparation d'un composé selon l'invention, qui est la 1-[3-(2-[^{18}F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-dione.

25

a) Complexe $\text{K}[\text{}^{18}\text{F}]\text{F-K}_{222}$.

Afin de récupérer et de recycler la cible d'eau [^{18}O], on lui fait traverser une résine échangeuse
 30 d'anions (AG1x8, de Bio-Rad, 100-200 mesh). L'ion

fluorure [^{18}F] est alors élué de la résine, en utilisant 1,0 mL d'une solution aqueuse de K_2CO_3 à 4,5 mg/mL.

Après addition de 11,0 à 15,0 mg de KRYPTOFIX® K_{222} (4, 7, 13, 16, 21, 24-hexaoxa-1,10-diazobicyclo[8.8.8]hexacosane), la solution résultante est alors doucement concentrée jusqu'à siccité à 145-150°C, sous un courant d'azote pendant 10 minutes pour donner un complexe $\text{K}[^{18}\text{F}]\text{F}-\text{K}_{222}$, pur, sous la forme d'un résidu blanc semi-solide.

10

b) 1-[3-(2-[^{18}F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-dione.

Du DMSO, fraîchement distillé (600 μL), contenant 4,0 à 6,0 mg du précurseur de marqueur « nitro » (ester de tertiobutyle de l'acide [3-(2-nitro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-carbamique) est ajouté directement dans le tube contenant le complexe $\text{K}[^{18}\text{F}]-\text{K}_{222}$ séché. Le tube (non scellé) est alors placé dans un bloc de chauffage (à 145°C pendant 4 minutes). Le tube est ensuite refroidi en utilisant un bain glace/eau et la radioactivité restante est mesurée.

85 % à 95 % de l'activité initiale placée dans le récipient est encore présente. Le mélange réactionnel obtenu de couleur sombre, est alors analysé par radiochromatographie. Les rendements d'incorporation sont calculés à partir du radiochromatogramme en CCM et sont définis par le rapport de surface du dérivé ester de tertiobutyle de l'acide [3-(2-[^{18}F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-

30

carbamique sur l'activité totale du ^{18}F fluor-18 ($\text{SiO}_2\text{-CCM}$; éluant : EtOAc ; R_f : : 0,75 et R_f : ion fluorure [^{18}F] : 0,0). Le mélange réactionnel est dilué avec 1 mL d'eau et transféré sur une cartouche C18 Sep-pak (waters). Le tube est rincé 2 fois avec 1 mL d'eau, qui est également transférée et ajoutée au mélange réactionnel dilué sur la cartouche.

On fait ensuite passer l'ensemble à travers la cartouche. La cartouche est lavée avec 3 mL d'eau et séchée en partie pendant 0,5 minute, en envoyant un courant d'azote.

Le dérivé de l'ester de tertibutyle de l'acide [3-(2- ^{18}F fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-carbamique est élué à partir de la cartouche avec 3 mL de dichlorométhane dans une fiole de réaction contenant 0,1 mL de TFA. On utilise 2 fois 1 mL de dichlorométhane pour laver la cartouche et pour transférer complètement le dérivé marqué au [^{18}F] mentionné ci-dessus (5 % de la quantité de radioactivité totale, impliquée dans le processus de fluoration, reste sur la cartouche). Le rendement d'incorporation est également confirmé après l'élution du Sep-pak par le rapport des valeurs de comptage du CH_2Cl_2 sur radioactivité totale éluee ($\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}+\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

La solution résultante $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$ (50/1, V/V) est concentrée à siccité (à $65\text{-}75^\circ\text{C}$) sous un courant d'azote modéré pendant 4 à 6 minutes). Le rendement de la déprotection est quantitatif : Aucune molécule, décrite ci-dessus, protégée par BOC ne peut être détectée par radiochromatographie. Le résidu, ci-dessus, est redissous dans 2 mL de CH_2Cl_2 et

- concentré de nouveau à siccité pour minimiser la présence de TFA (à 65-75°C sous un courant modéré d'azote pendant 4 à 6 minutes). Le résidu est alors dilué avec 0,5 mL de xylène contenant 25 mg de
- 5 N-méthoxycarbonylmaléimide. Le récipient est alors hermétiquement fermé, chauffé pendant 5 minutes à 190°C (fort reflux), puis refroidi pendant 2 minutes, en utilisant un bain glace/eau. Le mélange réactionnel est alors injecté sur une colonne de HPLC semi-préparative.
- 10 Elution isocratique [éluant : heptane/EtOAc : 50/50 ; débit : 6,0 mL/minute] qui donne de la 1-(3-(2-[¹⁸F]fluor-pyridin-3-yloxy)-propyl)-pyrrole-2,5-dione marquée, pure, temps de rétention : 7,5 à 8,0 minutes.
- 15 Typiquement, 60 à 70 mCi de 1-[3-(2-[¹⁸F]fluor-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-dione marquée, pure, peuvent être obtenus en 75 à 85 minutes, à partir de 550-650 mCi d'un lot de production [¹⁸F]F⁻ d'un cyclotron.

20

Exemple 8

- Dans cet exemple, on décrit le marquage d'un peptide, à savoir le peptide
- 25 N-acétyl-Lys-Ala-Ala-Ala-Ala-Cys-amide, par un composé selon l'invention, qui est le 1-[3-(2-[¹⁸F]fluor-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-dione.

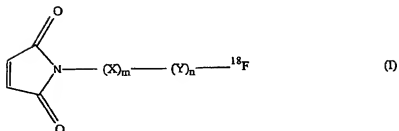
Le mode opératoire est le suivant :

- 30 A un équivalent de peptide (2mg/mL; 200 nmole; 36,2 µL) en solution dans du tampon Tris 50 mM,

- NaCl 150 mM, pH=7,4 on ajoute 1 équivalent de TCEP dans tampon Tris (7,9 mg/mL; 7,3 μ L; 200 nmole). L'échantillon est laissé 5mn à température ambiante puis est dilué dans 1mL de tampon Tris. Le synthon sec
- 5 1-[3-(2-[18 F]fluor-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-dione est repris dans 100 μ L d'un mélange heptane/acétate d'éthyle 50/50, et la solution de peptide réduit est ajoutée. L'échantillon est laissé 10 mn à température ambiante en agitant de temps en temps.
- 10 Le peptide marqué est purifié par HPLC sur colonne C18 avec un gradient de 0 à 34% acétonitrile/0,1%TFA dans H₂O/0,1%TFA en 30 mn (colonne DeltaPak C18, R_{t-peptide}=28mn).

REVENDICATIONS

1. Composé de formule générale (I) :



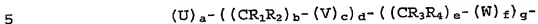
5

dans laquelle :

- m représente un nombre entier de 0 à 10, tel que 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ;
- 10 - n représente un nombre entier de 0 à 10, tel que 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ;
- Y représente un groupe choisi parmi les groupes alkyle, les groupes hétérocycliques monocycliques ou bicycliques choisis parmi les groupes
- 15 imidazolyle, pyrazolyle, benzimidazolyle, pyridinyle, piridazinyle, pyrimidinyle, pyrazinyle, triazinyle, quinolinyle, isoquinolinyle, cinnolinyle, quinazolinyle, quinoxalinyle, purinyle, Y pouvant être, éventuellement, substitué par un ou plusieurs
- 20 substituants, chacun de ces substituants étant indépendamment choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes phényle, alkyle en C₁₋₆, alcoxy en C₁₋₆, aryloxy, amino, mono- ou di(alkyle en C₁₋₆)amino, mono- ou di(aryl)amino, thio, alkyle en C₁₋₆-thio, arylthio,
- 25 formyle, alkyle en C₁₋₆-carbonyle, arylcarbonyle, carbonyle, alcoxy en C₁₋₆-carbonyle, aryloxycarbonyle,

alkyle en C₁₋₆-aminocarbonyle, arylaminocarbonyle, trifluorométhyle ;

- X représente un radical de formule :



dans laquelle :

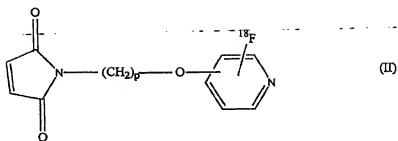
- a, b, c, d, e, f, g représentent chacun indépendamment un nombre entier de 0 à 10, tel que 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ;

- U, V et W représentent chacun

indépendamment -NR₁-, -O-, -S-, $\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{N}}}$ -, éthyne, -CR₁=CR₂-, -(C=O)-, -(C=S)-, -C(=NR₁)-, -C(=O)O-, -(C=S)S-, -C(=NR₁)NR₂-, -CR₁R₂-, -CR₁OR₂-, -CR₁NR₂R₃-, où R₁, R₂, R₃ et R₄ sont chacun indépendamment choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes phényle, alkyle en C₁₋₆, alcoxy en C₁₋₆, aryloxy, amino, mono- ou di(alkyle en C₁₋₆)amino, mono- ou di(aryl)amino, thio, alkyle en C₁₋₆-thio, arylthio, formyle, alkyle en C₁₋₆-carbonyle, arylcarbonyle, carbonyle alcoxy en C₁₋₆-carbonyle, aryloxy carbonyle, alkyle en C₁₋₆-aminocarbonyle, arylaminocarbonyle, trifluorométhyle.

2. Composé de formule (I) selon la revendication 1, dans laquelle n=1, et Y est un groupe 3-pyridinyle.

3. Composé selon la revendication 2, qui répond à la formule (II) suivante :

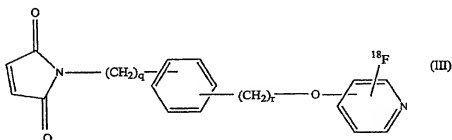


dans laquelle p est un nombre entier de 1 à 10, tel que 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou 9.

5 4. Composé de formule (II) selon la revendication 3, qui est choisi parmi :

- la 1-[2-(2-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-éthyl]-pyrrole-2,5-dione ;
- la 1-[4-(2-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-butyl]-pyrrole-2,5-dione ;
- 10 - la 1-[5-(2-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-pentyl]-pyrrole-2,5-dione ;
- la 1-[6-(2-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-hexyl]-pyrrole-2,5-dione ;
- 15 - la 1-[(2-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-méthyl]-pyrrole-2,5-dione ;
- la 1-[3-(2-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-pyrrole-2,5-dione.

5. Composé selon la revendication 2, qui
20 répond à la formule (III) suivante :



dans laquelle q et r représentent indépendamment un nombre entier de 0 à 10, tels que 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

5 6. Composé de formule (III) selon la revendication 5, qui est choisi parmi :

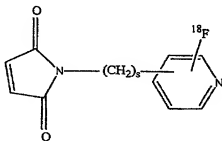
- la 1-[4-[2-(2-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yloxy)-ethyl]-phenyl]-pyrrole-2,5-dione ;

10 yloxymethyl)-phenyl]-pyrrole-2,5-dione ;

- la 1-[4-(2-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yloxymethyl)-benzyl]-pyrrole-2,5-dione.

7. Composé selon la revendication 2, qui répond à la formule (IV) suivante :

15



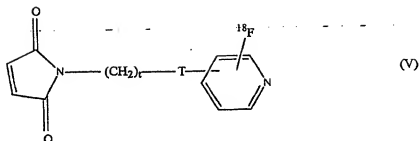
(IV)

dans laquelle s est un nombre entier de 1 à 10, tel que 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.

20 8. Composé de formule (IV) selon la revendication 7, qui est :

- la 1-[3-(6-[¹⁸F]fluoro-pyridin-3-yl)-propyl]-pyrrole-2,5-dione.

25 9. Composé selon la revendication 2, qui répond à la formule (V) suivante :



dans laquelle t est un nombre entier de 0 à 10, tel que
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 et T est un groupe -CH=CH- ou

5 -C≡C-.

10. Composé selon la revendication 9, qui
est choisi parmi :

la 1-[3-(6-[¹⁸F] fluoro-pyridin-3-yl)-
allyl]-pyrrole-2,5-dione ;

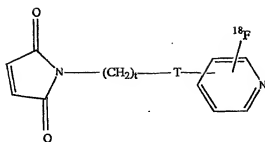
10 la 1-[3-(6-[¹⁸F] fluoro-pyridin-3-yl)-
prop-2-ynyl]-pyrrole-2,5-dione.

11. Utilisation d'un composé selon l'une
quelconque des revendications 1 à 10, pour le marquage
d'une macromolécule.

15 12. Utilisation selon la revendication 11,
dans laquelle ladite macromolécule est choisie parmi
les oligonucléotides, les protéines, les anticorps et
les peptides.

20 13. Utilisation selon l'une quelconque des
revendications 11 et 12, dans laquelle la macromolécule
est une macromolécule de reconnaissance d'un site
spécifique.

25 14. Utilisation selon la revendication 13,
dans laquelle ledit site spécifique est choisi parmi
les sites présentant des molécules cibles spécifiques



(V)

dans laquelle t est un nombre entier de 0 à 10, tel que
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 et T est un groupe $-CH=CH-$ ou
5 $-C\equiv C-$.

10. Composé selon la revendication 9, qui
est choisi parmi :

- la 1-[3-(6-[^{18}F] fluoro-pyridin-3-yl)-
allyl]-pyrrole-2,5-dione ;

10 - la 1-[3-(6-[^{18}F]fluoro-pyridin-3-yl)-
prop-2-ynyl]-pyrrole-2,5-dione.

11. Utilisation d'un composé selon l'une
quelconque des revendications 1 à 10, pour le marquage
d'une macromolécule.

15 12. Utilisation selon la revendication 11,
dans laquelle ladite macromolécule est choisie parmi
les oligonucléotides, les protéines, les anticorps et
les peptides.

20 13. Utilisation selon l'une quelconque des
revendications 11 et 12, dans laquelle la macromolécule
est une macromolécule de reconnaissance d'un site
spécifique choisi parmi les sites présentant des
molécules cibles spécifiques d'une pathologie, tels que
les sites d'apoptose, de nécrose, de zone tumorale.

d'une pathologie, tels que les sites d'apoptose, de nécrose, de zone tumorale.

15. Complexe comprenant une macromolécule couplée à un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

16. Complexe selon la revendication 15, dans lequel ladite macromolécule est choisie parmi les oligonucléotides, les protéines, les anticorps et les peptides.

10 17. Complexe selon la revendication 16, dans lequel ledit couplage est réalisée par réaction de la double liaison du groupe maléimido avec, spécifiquement, une fonction -SH de la cystéine dans le cas d'un peptide, ou une fonction phosphoro-thioate

15 dans le cas d'un oligonucléotide.

18. Complexe selon l'une quelconque des revendications 15 à 17, dans lequel la macromolécule est une macromolécule de reconnaissance d'un site spécifique.

20 19. Complexe selon la revendication 18, dans lequel ledit site spécifique est choisi parmi les sites présentant des molécules cibles spécifiques d'une pathologie, tels que les sites d'apoptose, de nécrose, de zone tumorale.

25 20. Trousse d'analyse et de détection, par exemple pour l'imagerie médicale comprenant un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 et une macromolécule.

30 21. Trousse d'analyse et de détection, par exemple pour l'imagerie médicale comprenant un complexe

14. Complexe comprenant une macromolécule couplée à un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

5 15. Complexe selon la revendication 14, dans lequel ladite macromolécule est choisie parmi les oligonucléotides, les protéines, les anticorps et les peptides.

10 16. Complexe selon la revendication 15, dans lequel ledit couplage est réalisée par réaction de la double liaison du groupe maléimido avec, spécifiquement, une fonction -SH de la cystéine dans le cas d'un peptide, ou une fonction phosphoro-thioate dans le cas d'un oligonucléotide.

15 17. Complexe selon l'une quelconque des revendications 14 à 16, dans lequel la macromolécule est une macromolécule de reconnaissance d'un site spécifique choisi parmi les sites présentant des molécules cibles spécifiques d'une pathologie, tels que les sites d'apoptose, de nécrose, de zone tumorale.

20 18. Trousse d'analyse et de détection, par exemple pour l'imagerie médicale comprenant un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 et une macromolécule.

25 19. Trousse d'analyse et de détection, par exemple pour l'imagerie médicale comprenant un complexe selon l'une quelconque des revendications 14 à 17.

20. Trousse de diagnostic comprenant un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 et une macromolécule.

selon l'une quelconque des revendications 15 à 19
couplé à une macromolécule.

22. Trousse de diagnostic comprenant un
composé selon l'une quelconque des revendications 1 à
5 10 et une macromolécule.

23. Trousse de diagnostic comprenant un
complexe selon l'une quelconque des revendications 15 à
19.

24. Utilisation d'un complexe selon l'une
10 quelconque des revendications 15 à 19 ou d'un composé
selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 dans
un procédé d'imagerie médicale, tel que la tomographie
par émission de positons (TEP).

25. Utilisation d'un complexe selon l'une
15 quelconque des revendications 15 à 19 ou d'un composé
selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 pour
fabriquer un produit destiné à l'imagerie médicale, par
exemple à la tomographie par émission de positons
(TEP).

26. Produit pour l'imagerie médicale, en
20 particulier la tomographie par émission de protons
comportant un complexe selon l'une quelconque des
revendications 15 à 19 ou un composé selon l'une
quelconque des revendications 1 à 10 avec un véhicule
25 pharmaceutiquement acceptable.

27. Procédé de préparation d'un composé de
formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1
à 10, dans lequel :

a) on met en contact un composé précurseur
30 de formule (Ia) :

21. Trousse de diagnostic comprenant un complexe selon l'une quelconque des revendications 14 à 17.

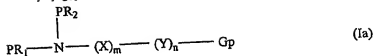
5 22. Utilisation d'un complexe selon l'une quelconque des revendications 14 à 17 ou d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 dans un procédé d'imagerie médicale, tel que la tomographie par émission de positons (TEP).

10 23. Utilisation d'un complexe selon l'une quelconque des revendications 14 à 17 ou d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 pour fabriquer un produit destiné à l'imagerie médicale, par exemple à la tomographie par émission de positons (TEP).

15 24. Produit pour l'imagerie médicale, en particulier la tomographie par émission de positons comprenant un complexe selon l'une quelconque des revendications 14 à 17 ou un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 avec un véhicule
20 pharmaceutiquement acceptable.

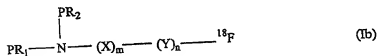
25 25. Procédé de préparation d'un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans lequel :

a) on met en contact un composé précurseur
25 de formule (Ia) :

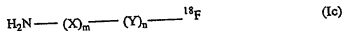


5 dans laquelle PR_1 et PR_2 représentent indépendamment un
 atome d'hydrogène ou un groupe protecteur de la
 fonction amine, à la condition que PR_1 et PR_2 ne soient
 pas tous deux un atome d'hydrogène, ou bien PR_1 et PR_2
 forment ensemble avec l'atome d'azote un groupe
 protecteur cyclique de la fonction amine, Gp représente
 10 un groupe partant susceptible d'être remplacé par un
 atome de fluor-18, et X, Y, m et n ont la signification
 déjà donnée dans la revendication 1, avec une source
 d'ions fluorure F^- marqués au $[^{18}\text{F}]$ pour donner un
 composé de formule (Ib) :

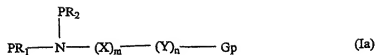
15



b) on élimine dans le composé (Ib), le ou
 les groupe(s) protecteur(s) PR_1 et/ou PR_2 de la fonction
 20 amine, pour donner un composé de formule (Ic) :

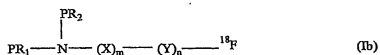


c) on fait réagir le composé (Ic) avec un
 25 réactif susceptible de donner un groupe maléimido à

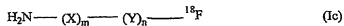


dans laquelle PR_1 et PR_2 représentent indépendamment un
 5 atome d'hydrogène ou un groupe protecteur de la
 fonction amine, à la condition que PR_1 et PR_2 ne soient
 pas tous deux un atome d'hydrogène, ou bien PR_1 et PR_2
 forment ensemble avec l'atome d'azote un groupe
 protecteur cyclique de la fonction amine, Gp représente
 10 un groupe partant susceptible d'être remplacé par un
 atome de fluor-18, et X, Y, m et n ont la signification
 déjà donnée dans la revendication 1, avec une source
 d'ions fluorure F^- marqués au $[^{18}\text{F}]$ pour donner un
 composé de formule (Ib) :

15



b) on élimine dans le composé (Ib), le ou
 les groupe(s) protecteur(s) PR_1 et/ou PR_2 de la fonction
 20 amine, pour donner un composé de formule (Ic) :



c) on fait réagir le composé (Ic) avec un
 25 réactif susceptible de donner un groupe maléimido à

partir d'un groupe amino, pour obtenir le composé final de formule (I).

28. Procédé selon la revendication 27, dans lequel les groupes PR_1 et PR_2 lorsqu'ils sont des groupes protecteurs sont choisis parmi les groupes tertibutoxycarbonyle (BOC) et fluorenylmethoxy carbonyl (FMOC), ou bien ils forment ensemble avec l'atome d'azote de la fonction amine un groupe phthalamido.

29. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 et 28, dans lequel le groupe Gp est choisi parmi les halogènes, tels que F, Cl, Br, I, les groupes mésyle, tosylo et triflate lorsque Y est un groupe alkyle ; et parmi les halogènes, les sels d'ammonium tel que le triméthylammonium-trifluorométhane sulfonate, et le groupe nitro, lorsque Y est un groupe aromatique ou hétérocyclique.

30. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 29, dans lequel, dans l'étape a), la source d'ions fluorure marqués au ^{18}F comprend lesdits ions fluorure et un contre-ion choisi parmi les cations de grande taille, tels que le rubidium, et le tétrabutyl-ammonium, et les cations de petite taille, tels que le potassium, le sodium et le lithium, lesdits cations de petite taille étant stabilisés par un cryptand ou un éther couronne adapté audit cation de petite taille.

31. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 30, dans lequel l'étape b) est

partir d'un groupe amino, pour obtenir le composé final de formule (I).

26. Procédé selon la revendication 25, dans lequel les groupes PR_1 et PR_2 lorsqu'ils sont des groupes protecteurs sont choisis parmi les groupes tertibutoxycarbonyl (BOC) et fluorenylmethoxy carbonyl (Fmoc), ou bien ils forment ensemble avec l'atome d'azote de la fonction amine un groupe phthalamido.

27. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 et 26, dans lequel le groupe Gp est choisi parmi les halogènes, tels que F, Cl, Br, I, les groupes mésyle, tosyl et triflate lorsque Y est un groupe alkyle ; et parmi les halogènes, les sels d'ammonium tel que le triméthylammonium-trifluorométhane sulfonate, et le groupe nitro, lorsque Y est un groupe aromatique ou hétérocyclique.

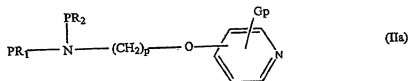
28. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 à 27, dans lequel, dans l'étape a), la source d'ions fluorure marqués au ^{18}F comprend lesdits ions fluorure et un contre-ion choisi parmi les cations de grande taille, tels que le rubidium, et le tétrabutyl-ammonium, et les cations de petite taille, tels que le potassium, le sodium et le lithium, lesdits cations de petite taille étant stabilisés par un cryptand ou un éther couronne adapté audit cation de petite taille.

29. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 à 28, dans lequel l'étape b) est

réalisée par mise en contact au composé (Ib) avec du
TFA dans le CH_2Cl_2 pendant une durée de 1 à 5 minutes.

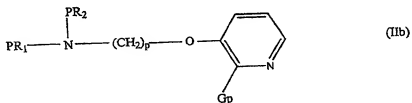
32. Procédé selon l'une quelconque des
revendications 27 à 31, dans lequel le réactif
susceptible de donner un groupe maléimido à partir d'un
groupe amino, dans l'étape c), est choisi parmi la
N-méthoxycarbonylmaléimide et la succinimide.

33. Procédé selon l'une quelconque des
revendications 27 à 32, dans lequel le composé de
formule (Ia) répond à la formule (IIa) suivante :



dans laquelle p a la signification déjà donnée dans la
revendication 3.

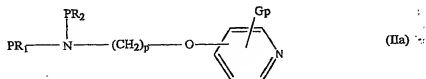
34. Procédé selon la revendication 33, dans
laquelle le composé de formule (IIa) répond à la
formule (IIb) suivante :



réalisée par mise en contact au composé (Ib) avec du TFA dans le CH_2Cl_2 pendant une durée de 1 à 5 minutes.

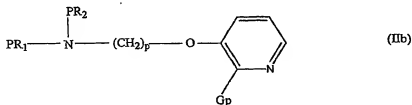
30. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 à 29, dans lequel le réactif susceptible de donner un groupe maléimido à partir d'un groupe amino, dans l'étape c), est choisi parmi la N-méthoxycarbonylmaléimide et la succinimide.

31. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 à 30, dans lequel le composé de formule (Ia) répond à la formule (IIa) suivante :



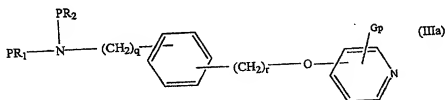
dans laquelle p a la signification déjà donnée dans la revendication 3.

32. Procédé selon la revendication 31, dans laquelle le composé de formule (IIa) répond à la formule (IIb) suivante :



35. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 32, dans lequel le composé de formule (Ia) répond à la formule (IIIa) suivante :

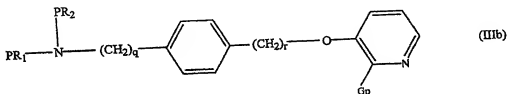
5



dans laquelle q et r ont la signification déjà donnée dans la revendication 5.

10

36. Procédé selon la revendication 35, dans lequel le composé de formule (IIIa) répond à la formule (IIIb) suivante :



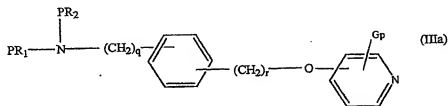
15

37. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 32, dans lequel le composé de formule (Ia) répond à la formule (IVa) suivante :

20

33. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 à 30, dans lequel le composé de formule (Ia) répond à la formule (IIIa) suivante :

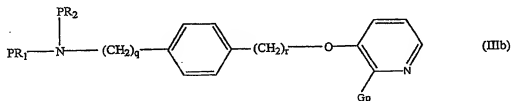
5



dans laquelle q et r ont la signification déjà donnée dans la revendication 5.

10

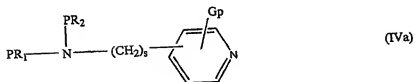
34. Procédé selon la revendication 33, dans lequel le composé de formule (IIIa) répond à la formule (IIIb) suivante :



15

35. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 à 30, dans lequel le composé de formule (Ia) répond à la formule (IVa) suivante :

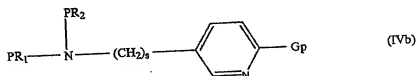
20



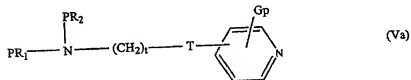
5 dans laquelle s a la signification déjà donnée dans la revendication 7.

38. Procédé selon la revendication 34, dans lequel le composé de formule (IVa) répond à la formule (IVb) suivante :

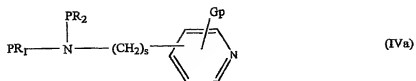
10



39. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 32, dans lequel le composé de
15 formule (Ia) répond à la formule (Va) suivante :



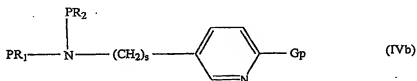
dans laquelle t et T ont la signification déjà donnée
20 dans la revendication 9.



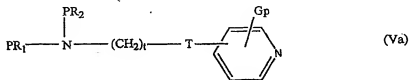
5 dans laquelle s a la signification déjà donnée dans la revendication 7.

36. Procédé selon la revendication 35, dans lequel le composé de formule (IVa) répond à la formule (IVb) suivante :

10

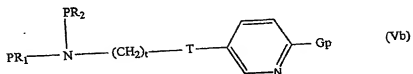


37. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 à 30, dans lequel le composé de
15 formule (Ia) répond à la formule (Va) suivante :



dans laquelle t et T ont la signification déjà donnée
20 dans la revendication 9.

40. Procédé selon la revendication 38, dans lequel le composé de formule (Va) répond à la formule (Vb) suivante :



5

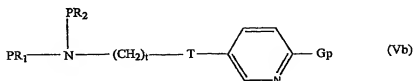
41. Composé précurseur de formule (Ia), tel que défini dans l'une quelconque des revendications 27 à 29.

42. Composé précurseur de formule (IIa), (IIb), (IIIa), (IIIb), (IVa), (IVb), (Va), (Vb) tel que défini, respectivement, dans les revendications 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 et 40.

43. Composé, précurseur d'un composé de formule générale (I), qui est choisi parmi les composés des revendications 4, 6, 8, et 10, dans lesquels le ^{18}F est remplacé par un halogène non radioactif, tel que ^{19}F , Cl, Br, I, un sel d'ammonium, tel que le triméthylammonium-trifluorométhanesulfonate ou un groupe $-\text{NO}_2$, et le groupe 1-pyrrole-2,5-dione est remplacé par un groupe tert-butoxycarbonylamino.

44. Composé précurseur selon la revendication 43, qui est le [3-(3-tert-butoxycarbonylamino-propoxy)-pyridin-2-yl]-triméthyl-ammonium trifluorométhanesulfonate ; l'ester de tertibutyle de [3-(2-nitro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-carbamique.

38. Procédé selon la revendication 37, dans lequel le composé de formule (Va) répond à la formule (Vb) suivante :



5

39. Composé précurseur de formule (Ia), tel que défini dans l'une quelconque des revendications 25 à 27.

10 40. Composé précurseur de formule (IIa), (IIb), (IIIa), (IIIb), (IVa), (IVb), (Va), (Vb) tel que défini, respectivement, dans les revendications 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 et 38.

15 41. Composé, précurseur d'un composé de formule générale (I), qui est choisi parmi les composés des revendications 4, 6, 8, et 10, dans lesquels le [^{18}F] est remplacé par un halogène non radioactif, tel que ^{19}F , Cl, Br, I, un sel d'ammonium, tel que le triméthylammonium-trifluorométhanesulfonate ou un
20 groupe $-\text{NO}_2$, et le groupe 1-pyrrole-2,5-dione est remplacé par un groupe tert-butoxycarbonylamino.

42. Composé précurseur selon la revendication 41, qui est le [3-(3-tert-butoxycarbonylamino-propoxy)-pyridin-2-yl]-
25 triméthyl-ammonium trifluorométhanesulfonate ; l'ester de tertibutyle de l'acide [3-(2-nitro-pyridin-3-yloxy)-propyl]-carbamique.

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UNITÉ


Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11235*02

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1. / 1.
(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 250899

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B14000.3/PA BD 14042	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0208203	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) COMPOSES DE MALEIMIDES MARQUES, LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET LEUR UTILISATION POUR LE MARQUAGE DE MACROMOLECULES.			
LE(S) DEMANDEUR(S) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE 31/33 rue de la Fédération 75752 PARIS 15ème			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		DOLLE	
Prénoms		Frédéric	
Adresse	Rue	10 allée de Villeneuve	
	Code postal et ville	91940	GOMETZ- LE -CHATEL
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) PARIS LE 1er Juillet 2002			
P. AUDIER			
422-5/002			